S. medicae و Sinorhizobium meliloti

پراکنش گونه‌های سینورزیوبیومی همزیست با یونجه در مناطق غربی ایران

مجد طالبی بهداد ۱، مسعود بهاد ۲، قدرت الله سعیدی ۳ و سید ایبالقاسم محمودی ۴ (تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۲۱)

چکیده

به منظور تبين پراکنش جفرشایی سینورزیوبیومی همزیست با یونجه در نواحي غرب و شمال غرب ايران، نماي ۹۵ جديده از سینورزیوبیومی همزیست با یونجه داخلی (به‌ديدگي و نیک شهری) و یک جمعیت خارجی (کوکودی) در هشت خاک جمع‌آوری شده از استان‌های کرمانشاه، آذربایجان شرقی و کرمانستان انتخاب شده است. نشان‌داده‌اي دقیق از جدابی به هم هما در منطقه Trigonella foenum-graecum (Mellilotus officinalis) ۳۱ جدابی هم‌زیست با یونجه در اين جدابیها استفاده از mucR و nod با استفاده از آغازگرهاي توصيفي شده، نماي یافته توليد یافته نوتي توسط و هضمه تبجيي رشته تعطیل رشته تعطیل زندهي زندهي ۱۶S rRNA سینورزیوبیومی از تمام گياهان جداسازی شده، ولي غالباً بودن S. meliloti Sinorhizobium از اين مطالعه موجود در مناطق مختلف روی جمعيت‌هاي یونجه مشخص S. meliloti گري تنوم که پراکنش جفرشایی سینورزیوبیومی در مناطق غربی ایران دارد. در این مطالعه الگوی گزینه‌های اصلی در سینورزیوبیومی با یونجه را به آسانی از هم تفکیک نموده که نشانگر مناسب بودن این روش S. meliloti و S. medicae PCR-RFLP یافته و محل پراکنش سیری ریزورزیومی ایجاد کننده گره در یونجه است.

Sinorhizobium medicae Sinorhizobium meliloti ، PCR-RFLP

واژه‌های کلیدی: یونجه، یونجه، یونجه، یونجه، یونجه

مقدمه

در سال‌های اخیر، آغازگرها در مطالعات محیطی و زیست‌پروری و انواع مختلف یونجه کشت شده‌اند. S. meliloti یکی از پژوهش‌های مهم گیاهان خانواده لگوم مانند یونجه، S. medicae نماینده‌ای آنها در سیستم‌های همزیست یونجه می‌باشد. هم‌زیستی اختصاصی بین یک گونه خاص بakteری بوده و به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۱. دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

mbahar@cc.iut.ac.ir

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m bahar@cc.iut.ac.ir

\[68/78/1396\]
گونه‌های سبززیچی‌های هم‌ریزی با یک‌نوا فوجه مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در یک تحقیقی از این گونه‌ها بیان گردید که در پنج جنس و Mesorhizobium Bradyrhizobium Azorhizobium Sinorhizobium S. terangae S. medicae S. meliloti است که در بین آنها S. meliloti و S. medicae که در جنس های دیگر S. medicae تولید شد. همانند نتیجه پیش‌تر یافته‌ها (11)، Trigonella اگرچه در بخش‌هایی از نظر تغییرهای نسبت به pH مخلوط با هم تفاوت‌اند (15 و 16)، ولی مجموع بررسی‌های مربوط به میزان زننی زننی ریزیوهویهای هم‌ریزی با گونه‌های S. meliloti در هر یک از میان S. meliloti در رواتوی بیشتری نشان می‌دهد. گونه‌ها S. medicae در پنج جنس س. meliloti با یک‌نوا دارند (1.1.1.1.2) به نظر می‌رسد در این رابطه متقابل، گونه‌های دیگر در تغییرهای هم‌ریزی منشا S. meliloti را از جمعیت‌های مختلف S. medicae گرفته است. (5) در پایی DNA (میانه‌ی زننی S. medicae و S. meliloti) (15 و 16) از جمله روش‌های دیگری هستند که در یک‌نوا ریزیوهویهای هم‌ریزی با یک‌نوا مورد استفاده بوده‌اند.

فاکتورهای RNA iRNA افراد فردی‌نشان و برای بررسی روابط فلزنتی‌کنی مناسب می‌باشد و به ویژه باکتری‌های است. (22). چون الگوی بررسی قطعه نکش یافته را در هر یک از گونه‌های S. meliloti و S. medicae به ویژه می‌باشد. در این مورد S. medicae و S. meliloti S. meliloti با استفاده از آزمایش بررسی 16S rDNA (21) لذا از این روش نیز در تحقیک گونه‌های مرزور سبز‌زیچی‌های هم‌ریزی با S. meliloti اشکال شده است S. meliloti (1 و 26) اگرچه نیز یک روش شناسایی سريع گونه PCR از بین روش‌های هم‌ریزی با S. meliloti معرفی گردیده است. در این روش از آغازگرهای طراحی شده

باکتری‌های هم‌ریزی با یک‌نوا فوجه از لگوریتم سابقه نام خود را گرفته‌اند

روزهای مولکولی زیادی برای تشخیص ذیق

طی نماینده در برخی موارد ممکن است عدم شناسایی ذیق گونه هم‌ریزی باعث اشتیاق در ارزیابی صحیح از تغییر در جمعیت چند ساله گونه شود. لذا شناسایی آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. همین‌طور در به دلیل شما خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بوشیمیایی سبززیچی‌های هم‌ریزی با S. meliloti تشخیص ذیق ان دو گونه با اساس مشخصات S. medicae رشد در محیط اخلاقی و با خصوصیات بوشیمیایی ممکن است لازم است برای تحقیق سریع آنها پذیرفته شود.

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 14:25 IRST on Wednesday October 23rd 2019...
توجه کنید که سرده میکان 4 در بلاسمید pSym و nodbox4 در S. meliloti می‌تواند در طی معاین میکروژمینی از S. medicae برای تشخیص سوش‌های زن nodR استفاده نماید (19). 

در ایران کسانی بونهچه این گونه‌ها را محصول می‌کنند. نتیجه نشان داد که این گونه‌ها به S. meliloti در منطقه هندومان (1) و ماهیت امپاتری در رابطه با پراکنش برخی بیماری‌های زراعتی سوش‌های S. medicae و S. meliloti در ایران مورد استفاده قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

DNA جمع‌آوری نمونه‌ها و استخراج

به منظور جداسازی ریزوبیوم‌های همزیست با بونهچه، ابتدا سه جمعیت بونهچه چندساله شامل دو جمعیت داخلی (همدانی و نیک شهری) و یک جمعیت جدید شده خارجی (کودای) به طور جداگانه در دو نمونه کم‌تراز از مناطق مختلف و با همان نمونه مقدار دیگری را در گل‌خانه تکرار کردند. با این حال، برای شناسایی باکتری‌های همزیست به یک نمونه بونهچه و یک نمونه از هر یک از مناطق، گروه بایرشاپ که از نمونه‌های مربوط به کلمبوس، سنتیک و لرسبان استفاده کردند.

PCR

به وسیله nodR و nodbox4 تکرار میکان

به منظور تکرار میکان nodbox4 در جداسازی ریزوبیوم مورد بررسی، از جفت آغازگر nodbox1/nodbox3 و برای تکیه زن nodbox1/nodbox3 مورد استفاده می‌گردد. از جفت آغازگر nodbox1/nodbox3 nodR/nodR1 Rm1021 (S. meliloti) استفاده گردید (18). 

Bazzicalupo LMG18864 (S. medicae) و دانشگاه فورین‌اش-ایتالیا) به عنوان جداسازی ریزوبیوم با PCR استفاده شد.

مواد خردی‌های شده از شرکت Roche Co در حجم 15 مایلی‌لیتر در مایلی‌لیتر در حقلی‌های مکروژمینی به دست آمده را به میکروژمینی از S. meliloti استفاده می‌کردند.
جدول 1. نام‌ها و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

<table>
<thead>
<tr>
<th>نام آغازگر</th>
<th>دمای اتصال (°C)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>nodbox1</td>
<td>57/28</td>
</tr>
<tr>
<td>nodbox3</td>
<td>57/1</td>
</tr>
<tr>
<td>mucRf</td>
<td>59/8</td>
</tr>
<tr>
<td>mucRr</td>
<td>58/2</td>
</tr>
<tr>
<td>fDI</td>
<td>55</td>
</tr>
<tr>
<td>rDI</td>
<td>55</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Macrogen تاپی دن. ترتیب نوا و آنجام غرفه تا پیوست شرکت کر در جویپ انجام گرفه توان قطعات همسانه‌سازی شده با زن‌های موجود در باکی اطلاعاتی زن (NCBI) مجاوره گردد.

**Rsal**

به اثبات تکثیر قطعه 16S rDNA برای آزمایش 16S rDNA جدایی‌ها از جفت آغازگرهای fDI و ID1 استفاده گردید (22). سپس و در ماه‌های آغازگرهای m15 در حجم 15 میکرولیتر شامل 1/5 میکرولیتر بافر X10 حاوی Taq DNA polymerase، یک واحد و دو میلی‌مولار از dNTPs و دو میلی‌مولار از DNA استخراج، شده از هر نمونه دارد. به هر نمونه یک قطره به روند معیدی استرل اضافه شده و لوله‌ها در PCR دستگاه ترمومافیل قرار داده. نرخ انجام و چکش شامی برای انجام PCR به مدت 95 درجه سانتی‌گراد در دقیقه و 30 دقیقه در 94 درجه سانتی‌گراد و به مدت 90 دقیقه. به مدت 72 درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. از محدوده PCR می‌توان ابتدا پنج میکرولیتر TBE روي زل آگروز 1/2 درصد با بکر DNA کرایز ووربی رابه و پس از رنگ آمیزی به وسیله الیدوم برپایه و مشاهده قطعه مورد اندازه، 10 میکرولیتر دیگر واکنش به وسیله پک میکرولیتر آزمون بررسی Rsal (5U/μL) با 1/5 میکرولیتر باقر مربوطه و 2/5 میکرولیتر آب در یک واکنش 15 میکرولیتر هضم گردید. پس از نگهداری سه ساعت و یک وان در -37 درجه سانتی‌گراد، قطرات هضم شده

**PCR همسانه‌سازی و نوا و آنجام قطعات**

به وسیله mucR در وسیله 4 nodbox1 و ژن آنزیم بررسی 2 کیت K1214 منافک یک از تکثیر مکانیFERMENTAS (Ins TA clone™ PCR) # می‌بایست (Ins TA clone™ PCR) # با سبوه E. coli شد و به میزان pTZ5R/T ناقل همسانه‌سازی شده باعث این MCl616 انتقال ناپذیر. به منظور غربالگری اولیه همسانه‌ها از (Rapid screening) استخراج گردید. (20) پلاسمید همسانه‌هایی به دست آمد، به کمک کیت (Real Biotech Corp.) RBC همسانه‌ها با آزمایش تکثیر. کیفیت با نتوان شده در این پلاسما هیا به کمک جفت آغازگرهای مربوطه در واکنش PCR و آزمایش Tوست آنزیم بررسی (Fermentas Co.) EcoRI و PstI آزمایش تکثیر با (Alzheimer's disease) همسانه‌ها در سال‌های چهل و شیمیاء (ب) بهار 1388
S. meliloti به منظور تایید ارتباط این باند با H. erectus، قطعه تکثیری بافتی در جدایی B41-13 و B41-8 نیز تهیه شده است. نتایج نشان داد که قطعه nodM، در مورد گونه S. meliloti از یکدیگر تفاوت ندارد.

**نتایج و بحث**

از کشت مخلوط گونه‌های مختلف گوجه‌فرنگی و همچنین این گونه در محیط‌های مختلف قرار گرفته می‌گردد.

رشد یافته در خاک‌هایه جمع آوری شده از مناطق مختلف و شرایط و تعداد 950 جدایی باکتری سیتروزیمی و جدیدسازی گردد. از گونه‌های گیاهانی که باند nodB 20 نزی به ترتیب 14 و (T. polycerata) به همراه جدایی M. officinalis

31 جدایی به‌دست آمد. در واکنش هم‌رخ همراه با جدایی LMG18864، به جدایی باند nodR به درصد 1/5 در نتایج بالا نشان داده می‌شود که استاندارد nodR ممکن است در جدایی S. meliloti موجب ارتباط شوند. به عنوان یک سیگنال صنایع در رابطه با حوزه‌های حیاتی، میزان اهمیت در S. meliloti LMG18864 رضایت کردنی به 50/14 نسبت به جدایی S. meliloti استاندارد رضایت کردنی 1021 باند nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti LMG18864 و S. meliloti LMG18864 نشان داده می‌شود که استاندارد nodR در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کرdenی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عنین nodM، در S. meliloti به جدایی nodR رضایت کردنی به عن

**S. medicae** و S. medicae

موجب تردد در این نام گذاری شد.

S. meliloti

477
شکل 1. نتایج PCR محصول یا جفت آغازگرهای nodbox3/ nodbox1 و mucRr/mucRf در جدایی‌های چند ساله در خاک‌های مختلف غرب و شمال غرب ایران از جمعیت‌های پوسته چند ساله در خاک‌های مختلف غرب و شمال غرب ایران

شکل 2. مقایسه توافقات نقشه DNA تکثیر بافت به وسیله جفت آغازگرهای nodbox3/nodbox1 در رای‌های زیرپویه 13-NCBI (Ref)
شکل 3. مقایسه نویل قطعه DNA جفت آغازگر PCR RFLP-16S rDNA S. meliloti RM1021 و S. medicae P6583 با چنین یک جفت بایزی. می‌تواند به منظور وجود گونه س. medicae از هم دیگر کمک نماید.

چون تیمار گونه‌های جدایی‌های در بین S. medicae و S. meliloti موردنظر بررسی با استفاده از جفت آغازگرها، S. medicae و S. meliloti را با آزمایش وسیله منظور شناسایی دقیق تر گونه‌ها از روش هضم با آنزیم بررسی می‌کند.

در نظام رشته‌ای-16S rDNA، آغازگرها RsaI حاوی 22 پس از تکثیر باید در نظام رشته‌ای-16S rDNA هضم آن با آنزیم BRs می‌باشد.
شکل ۲. الکتروفوروژ مولکول PCR در ۱۶S rDNA زن PCR ۱۶S rDNA گینه چند ساله و در خاک‌های مناطق مختلف ایران

از گینه چند ساله و در خاک‌های مناطق مختلف ایران

می‌توان در مورد تشخیص شرایط محیطی و جمع‌یافته‌های مختلف گینه چند ساله و در خاک‌های مناطق مختلف ریزوبیوم داری نمود ولی می‌توان گفت که همزیستی گونه S. medicae چند ساله متفق نیست.

فرآیند نسبت جمعیت S. medicae به گیاهان یک‌ساله در گیاهان یک‌ساله (M. sativa) می‌تواند به گونه چند ساله Medicago بررسی یابد. در مقایسه با گیاهان یک‌ساله S. medicae ۷۷ جداره در این پژوهش از هر بوته میزان چهار جداره متفاوت بررسی شد و در همه موارد جداره‌های به دست آمده از هر بوته متعلق به یک گونه بودند. تها در یک مورد از بین چهار ریزوبیوم جداپارسازی شده از بوته شیلدیل دو جداره به S. medicae و در جداره دیگر به گونه S. meliloti تعلق داشتند.

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد گونه S. medicae در خاک‌های مناطق غرب و شمال غرب کشور و S. meliloti در همزیستی با جمع‌یافته‌های مختلف گونه چند ساله غلبه باشید که در پژوهش قبلی مربوط به تفاوت عادی‌بودی‌های همدان نیز چنین تبعیض‌های به دست آمده بود (۱). از آنجا که گونه S. medicae در جداره چند ساله غلبه با نسبت به گونه S. meliloti همزیستی دارد S. medicae بر پایه S. medicae یک‌ساله فراوانی بیشتر نسبت به Medicago sp. به داراد (۲۵ و ۲۶) به طوری که در مناطق مختلف مکزیک از ۱۴۸۸

۷۲۴
متناهی مورد استفاده

1. کریمی، ا.ا.ک. خوانی، م. خواص‌های فیزیولوژیکی و میکروبیتیک ژن‌های سینوریزولیتویی بر اساس PCR/ RFLP 16S-23S rDNA


